

Aus der Wilhelm Conrad Röntgen-Klinik
der Justus Liebig-Universität Gießen
(Direktor: Prof. Dr. Dr. G. Barth)
Abteilung für Experimentelle Radiologie und Strahlenschutz
(Leiter: Prof. Dr. L. Rausch)

**Extracorporale in-vivo Messung der
³²P-Inkorporation an unbestrahlten und
röntgenbestrahlten Karzinomen der weißen Maus**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Helmut Strack
aus Wien

Gießen 1970

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Wilhelm Conrad Röntgen-Klinik
der Justus Liebig-Universität Gießen
(Direktor: Prof. Dr. Dr. G. Barth)
Abteilung für Experimentelle Radiologie und Strahlenschutz
(Leiter: Prof. Dr. L. Rausch)

**Extracorporale in-vivo Messung der
 ^{32}P -Inkorporation an unbestrahlten und
röntgenbestrahlten Karzinomen der weißen Maus**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Helmut Strack
aus Wien

Gießen 1970

Aus der Wilhelm-Carl-Hochschule

der Stadt Leiden

(Hochschule für Kunst und Wissenschaft)

Abteilung für Experimentelle Biologie und Anatomie

Leiden, den 12. Juni 1958

Erstpublikation in der Zeitschrift der

up. Information zu unterrichten und

röntgenbestrahltes Kollagen der weißen Haut

INVAHENT-DRUCK

an der Hochschule für Kunst und Wissenschaft

der Stadt Leiden

der Stadt Leiden



Dekan: Professor Dr. Habermann

Referent: Professor Dr. Rausch

Korreferent: Professor Dr. Dengler

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
1. Einleitung	5
2. Fragestellung	7
3. Versuchsanlage	8
4. Meßtechnik	10
4.1. Meßgeräte	10
4.2. Temperatureinflüsse auf den Detektor	11
4.3. Meßgeometrie	12
4.4. Körpertemperatur der Versuchstiere	14
5. Tierexperimente	15
5.1. Methodik	15
5.1.1. Tiermaterial	15
5.1.2. Tumormaterial	15
5.1.3. Gewinnung eines soliden Tumors	16
5.1.4. Überimpftechnik	16
5.1.5. Auslesekriterien	17
5.1.6. Volumenbestimmung der Tumoren	17
5.1.7. Bestrahlung der Tumoren und Bestrahlungs- gerät	19
5.1.8. Radiophosphor	20
5.1.9. Injektionstechnik	22
5.1.10. Auswertungskriterien	23
5.1.11. Einfluß der ^{32}P -Anreicherung in der Haut	26
5.1.12. Statistische Rechenmethoden	27
5.1.13. Meßbereich des Detektors im Tumor	28
5.2. Vorversuche mit bestrahlten und unbestrahl- ten Tumoren	29
5.3. Hauptversuche	31
5.3.1. Unbestrahlte Kontrollen	31

	<u>Seite</u>
5.3.2. Bestrahlte Tumoren	34
5.3.3. Ergänzende Untersuchungen	36
6. Diskussion der Ergebnisse	39
7. Zusammenfassung	45
8. Literaturverzeichnis	46
Lebenslauf	53

1. EINLEITUNG

Die Untersuchungen über das Verhalten von ^{32}P im Organismus von Mensch und Tier begannen etwa 1940. JONES, CHAIKOFF und LAWRENCE (27, 28) ermittelten die ^{32}P -Verteilung in normalem und neoplastischem Gewebe von Mäusen. Sie beschrieben die vermehrte ^{32}P -Aufnahme in Tumoren dieser Tiere (Mamma-Ca., Lymphosarkom) verglichen mit normalem Gewebe. Dieses Verhalten kann vor allem den Nukleo- und Phosphoproteiden zugeschrieben werden (TUTTLE, ERF, LAWRENCE (42 und 43)), sowie der erhöhten Mitoserate der unreifen Zellen von Tumoren (CHAIKOFF (6)). Auch bei entzündlichen Prozessen erhöht sich der ^{32}P -Einbau in das Gewebe (GEFFEN, LOEVINGER, BERNARD (14)). HOWARD und PELC (23) zeigten an Hand von Autoradiographien und Chromatographien, daß das Maximum der ^{32}P -Konzentration in einer einzelnen Zelle in der Prophase erscheint, korrespondierend mit der maximalen DNS-Konzentration. Die Autoren weisen auf die Rolle der phosphorylierenden Verbindungen im intermediären Stoffwechsel besonders der Glykolyse hin und diskutieren den Zusammenhang zwischen DNS-Synthese und Glykolyse. Danach bedingt vermehrte Stoffwechselleistung zur Zeit der DNS-Synthese eine erhöhte Glykolyse, was wiederum einen Anstieg des ^{32}P verursachen könne, der an dem Ablauf der Glykolyse beteiligt ist.

Die systematischen Oberflächenmessungen der ^{32}P -Verteilung von LOW-BEER und seiner Gruppe (33) ergaben beim menschlichen Mamma-Ca. eine 25 % höhere Oberflächenaktivität verglichen mit der nichtbefallenen Mamma. Diese Ergebnisse veranlaßten GEFFEN, LOEVINGER und BERNARD (14) mittels intravenös zugeführtem ^{32}P zwischen malignen und benignen Prozessen zu unterscheiden. Der Nachteil der relativ kurzen Reichweite der β -Teilchen im Gewebe wurde von ihnen zugunsten einer einfachen Suchmethode in Kauf genommen. Die Aktivitätskurven, die über der Haut bei 140 minütiger Meßdauer gewonnen wurden, zeigen einen Gipfel nach 10 Minuten, fallen dann ab und gehen zwischen der 40. - 60. Minute in ein Plateau über. Die Anwendung des

^{32}P als Diagnostikum für maligne Hautprozesse oder oberflächlich gelegene Metastasen bringt nach Ansicht der Autoren keinen Vorteil im Vergleich zu den konventionellen Methoden. Sie untersuchten weiterhin die Abhängigkeit ihrer Meßkurven vom Kreislauf am Menschen. Körperliche Anstrengungen oder Eintauchen der Hände in kaltes Wasser verursachten weder im Tumorgebiet noch auf der gesunden Vergleichsseite Änderungen im Aktivitätsverlauf.

GRAUL (17) untersuchte die Hautdurchblutung mittels intracutan oder intravenös zugeführtem ^{32}P . Er beschreibt eine Zunahme der biologischen Halbwertszeit mit steigendem Lebensalter, sowie eine bessere Resorption des ^{32}P in der Haut des linken Beines verglichen mit der des rechten. Hautkrankheiten, außer Ekzem und akuter Entzündung, sowie arterielle oder venöse Gefäßalterationen führen zu einer Verminderung der Hautaktivität. Ekzeme, akute Entzündungen und Sympathektomien verursachen einen Aktivitätsanstieg.

Die Ergebnisse von GEFFEN, LOEVINGER und BERNARD (14) stehen im Gegensatz zu den Resultaten von GRAUL (17), der eine Verminderung der Hautaktivität nach Applikation von Kältereizen auf die zu messende Extremität fand. Messungen mit in menschlichen Mamma-Karzinomen implantierten Miniatur-Geiger-Müller-Zählrohren teilten HALE (20) und BULLEN (4) mit und beschrieben rhythmische Schwankungen in der Anreicherung, die hormonal bedingt sein sollen. Nach Gabe von Oestrogenen registrierten sie 12 Stunden später einen Aktivitätsanstieg; Androgene bewirkten 3 1/2 - 4 Tage nach Zufuhr einen Abfall der Impulszahlen.

Mit ^{32}P als Tracer beobachteten sie, wie die Aktivität in einem malignen Melanom 45 Stunden nach Gabe eines Cytostatikums deutlich absank.

Tumoren, die zur Zeit eines Maximums der ^{32}P -Anreicherung bestrahlt wurden, zeigten sich relativ strahlenempfindlicher als

solche, die während des Durchschreitens eines Minimums bestrahlt wurden. Die Reaktion auf Cytostatika, gemessen an dem Anstieg der ^{32}P -Konzentration im Tumor, zeigt ein ähnliches Bild. Zur Zeit des Aktivitätsmaximums zeigt sich der Tumor empfindlicher als während eines Minimums. KREPSZ, HIRSCHFELD und PUPP (30) beschrieben zyklische Schwankungen des ^{32}P -Einbaues im Guerin-Sarkom in der Rückengegend der Ratte.

2. FRAGESTELLUNG

Gelänge es strahlensensible oder unempfindliche Phasen eines Tumors in vivo zu unterscheiden, was allerdings zumindest eine Teilsynchronisation der Zellteilung voraussetzt, so wäre eine wesentlich effektivere Strahlentherapie möglich, die den Gegebenheiten des Tumorwachstums besser angepaßt wäre. Einen Beitrag in dieser Richtung sollen die nachfolgend beschriebenen Experimente liefern, bei denen mit Hilfe von ^{32}P als Tracer untersucht wird, wie sich Experimentaltumoren zu verschiedenen Zeiten vor und nach Einschlagbestrahlung gegenüber dem Angebot von Phosphor verhalten, der als qualitativer Indikator für die Stoffwechselaktivität der Tumoren betrachtet werden soll.

Die Mehrzahl der bisher veröffentlichten Ergebnisse über die ^{32}P -Anreicherung in Experimentaltumoren konnte nur am herausoperierten, chemisch aufgearbeiteten oder veraschten Tumor gewonnen werden (11, 12, 27). In vivo-Experimente an Experimentaltumoren ließen sich bis heute aus physikalischen und technischen Gründen kaum realisieren. Die sprunghafte Entwicklung der Halbleitertechnologie in den vergangenen 10 Jahren führte jedoch zu Detektoren, deren Anwendung mit vertretbarem technischen Aufwand eine Messung der ^{32}P -Anreicherung am lebenden Tumor von innen oder außen ermöglichte. Zur Bearbeitung der genannten Fragestellungen wurde gleichzeitig zu der Arbeit von PFEIFF (35) eine Abwandlung seiner Meßtechnik vorgenommen (s. Abb. 1, 4-6). Sie erlaubt extracorporale Messungen in vivo an Mäusetumoren mit Hilfe eines Halbleiterdetektors, der über

einem exophytisch wachsenden Experimentaltumor plaziert, die Messung von β -Teilchen des im Tumor angereicherten Phosphors ermöglicht. Die Ausarbeitung und Anwendung der Meßtechnik wird in der vorliegenden Arbeit beschrieben.

3. VERSUCHSANLAGE

Gemäß der Fragestellung wurden nach Ausarbeitung einer Meßtechnik unter Verwendung von Halbleiterdetektoren aus Silizium in vivo Experimente zur ^{32}P -Inkorporation an Ehrlich-Karzinomen der Maus unternommen. In einer Reihe von Vorversuchen an bestrahlten und unbestrahlten Tumoren (ca. 100 Experimente) wurde das Konzept für die Hauptversuche erarbeitet.

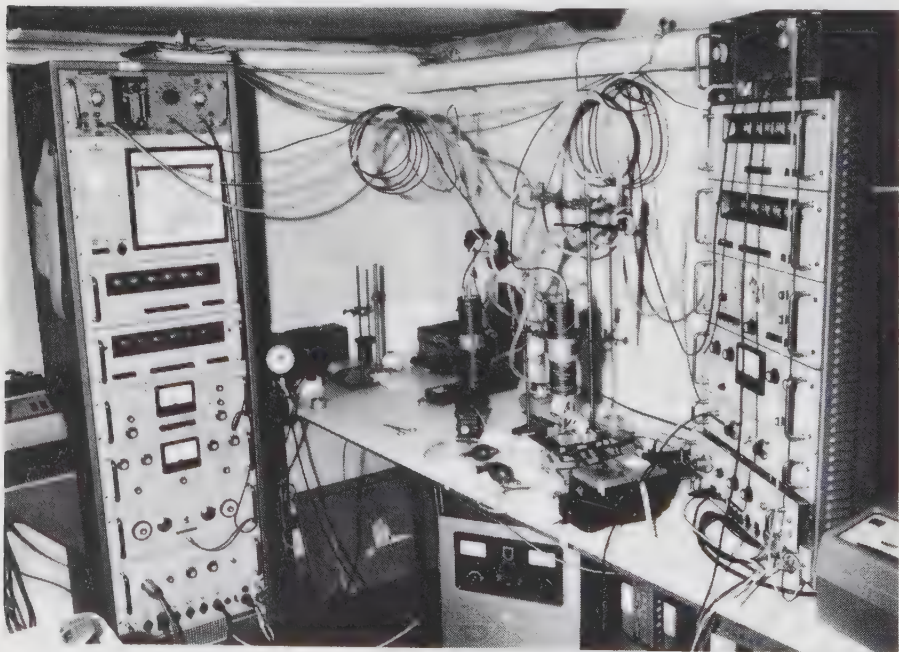


Abb. 1

Übersichtsaufnahme des Meßplatzes

Die sich dabei ergebenden wechselseitigen biologischen und technischen Einflüsse wurden so unter Kontrolle gebracht, daß die Reproduzierbarkeit der Einzelmessung gewährleistet war.

Verglichen wurden danach die ^{32}P -Inkorporation der unbestrahlten mit der ^{32}P -Inkorporation unterschiedlich bestrahlter Tumoren zu verschiedenen Zeiten nach Röntgenbestrahlung.

Die Experimente des Hauptversuches fanden im Zeitraum August - Dezember 1966 statt.

Abb. 1 zeigt den Meßplatz. Zur beschleunigten Gewinnung von Meßdaten wurden zwei gleichartig arbeitende Meßanlagen aufgebaut (s. a. Abb. 2).

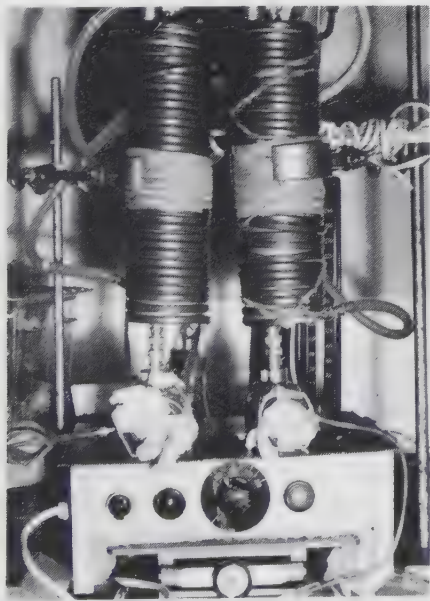


Abb. 2

Kühlung zweier Vorverstärker mittels wasserdurchflossener Kupferwendel und Heiztisch zur Regulierung der Körpertemperatur der Versuchstiere

4. MESSTECHNIK

4.1. Meßgeräte

Den Versuchsaufbau zeigt Abb. 3 im Blockschaltbild. Er besteht aus einem un abgeschirmten Halbleiterdetektor (Oberflächensperrschichtzähler der Firma Nucletron München, Type Nu-C5-OF100 bzw. Nu-D5-OF100, N-Silizium, spez. Widerstände $40 - 45 \text{ k}\Omega/\text{cm}$, empfindliche Fläche zwischen $0,8$ und $1,8 \text{ cm}^2$, Betriebsspannung $30 - 50 \text{ Volt}$).

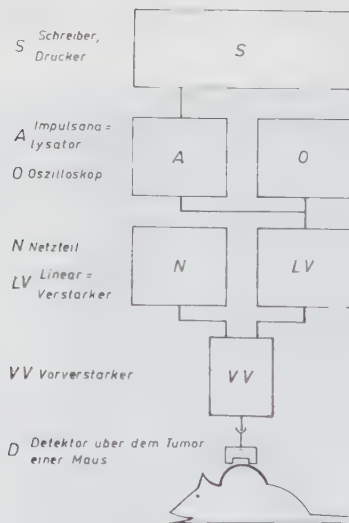


Abb. 3

Blockschaltbild der Meßanlage

Die empfindliche Fläche des Detektors ist mit einer dünnen lichtdurchlässigen Goldschicht bedampft. Um die Lichtempfindlichkeit und damit das Rauschen durch Lichteinfall auszuschalten, wurde er mit einem dünnen Aluminiumfenster ($12 \mu\text{m}$, bzw.

$3,4 \text{ mg/cm}^2$) versehen, dessen Einfluß auf die Meßausbeute durch Teilchenschwächung und Absorption kleiner als 2 % ist (35).

Daran schließt sich ein Halbleiterspektrometer (Firma Nucletron) an, bestehend aus: ladungsempfindlichem Vorverstärker Type NU 701, Netzteil NU 550 und Hauptverstärker NU 710.

Aus dem entsprechend seinen physikalischen Eigenschaften optimal eingestellten Si-Detektor gelangen die Impulse der absorbierten β -Teilchen (^{32}P) in den Vorverstärker, von dort nach Impulsformung in den Hauptverstärker. Da das impulsaufzeichnende System (Drucker und Schreiber s. w. u.) an ein Kernstrahlungsmeßgerät der Baureihe GS (Siemens) (Netzteil, Linearverstärker, Integraldiskriminator, Mittelwertmesser, Impulzzähler und Uhr) angeschlossen ist, wurde das Halbleiterspektrometer an das Kernstrahlungsmeßgerät adaptiert. Die aus dem Halbleiterspektrometer kommenden Impulse wurden im Siemens-Linearverstärker nachverstärkt und über einen Kienzle-Drucker ausgedruckt bzw. die Impulse mit Hilfe eines Mittelwertmessers auf einen Schreiber (Metrawatt Nürnberg Type PCO1, 4×53) gegeben. Es erwies sich als zweckmäßig, das Meßsystem mit einem Netzstabilisator (Philips Type 7776/06) zu stabilisieren und mit einem Hochfrequenzfilter (Siemens B 84101 - A80) gegen eindringende hochfrequente Störimpulse abzublocken.

4.2. Temperatureinflüsse auf den Detektor

Da Halbleiterdetektoren hinsichtlich der Impulsausbeute empfindlich auf Temperaturschwankungen reagieren, müssen sie bei konstanten Betriebstemperaturen arbeiten (vergleiche hierzu die entsprechenden Untersuchungen von PFEIFF (35)). Dies wurde erreicht, indem der mit Röhren (Nuvistoren) bestückte Vorverstärker mit einer Kühlwendel (s. Abb. 2) - wasserdurchflossenes Cu-Rohr $\varnothing 0,5 \text{ cm}$ - versehen wurde. Der Einfluß der Raumtemperatur wurde durch Klimatisierung des Meßraumes ausgeschaltet.

4.3. Meßgeometrie

Geringe Veränderungen des Abstandes zwischen Detektorzählfläche und Haut über dem Tumor verursachen große Schwankungen der gemessenen Impulsausbeute und der Mittelwertskurve und machen solche Versuche wertlos, da eine erneute exakte Einstellung ohne Hilfsmittel meistens mißlingt.

Der Abstand zwischen Detektorzählfläche und der Haut über dem Tumor wurde daher mit Bleiblechen eingestellt, deren kreisförmige Aussparung einen um wenige Millimeter größeren Durchmesser aufwies als die Zählfläche des Detektors (Abb. 4 - 6).

Probehaltber ausgeführte Mehrfacheinstellungen von Detektor und Meßobjekt bewiesen die Brauchbarkeit der Methode; die Impulsrate war nach der Unterbrechung unverändert. Die für die Versuche wichtige technische Aufgabe, die tumortragende Maus 3 Stunden lang unter dem Detektor ruhig zu halten, wurde folgendermaßen gelöst: Durch einen mit Luft aufblasbaren Halter, ein starres Gummirohr (Kühlwasserschlauch eines Lastkraftwagens) mit entsprechend weitem Lumen und einer Öffnung für den Tumor, wurde innen mit einer dünnen Gummilage ausgekleidet, die an den Rohröffnungen festgeklebt war. Lufteinblasung führte zur Ausbildung von 4 dicken längsgerichteten Wülsten zwischen denen die Maus ohne Schaden zu nehmen festgehalten wurde. Der Luftdruck betrug 10 bis max. 15 mm Hg ü. NN, er wurde durch ein Hg-Manometer kontrolliert; Regulierung erfolgte durch Wasserüberdruckventile (Abb. 7).

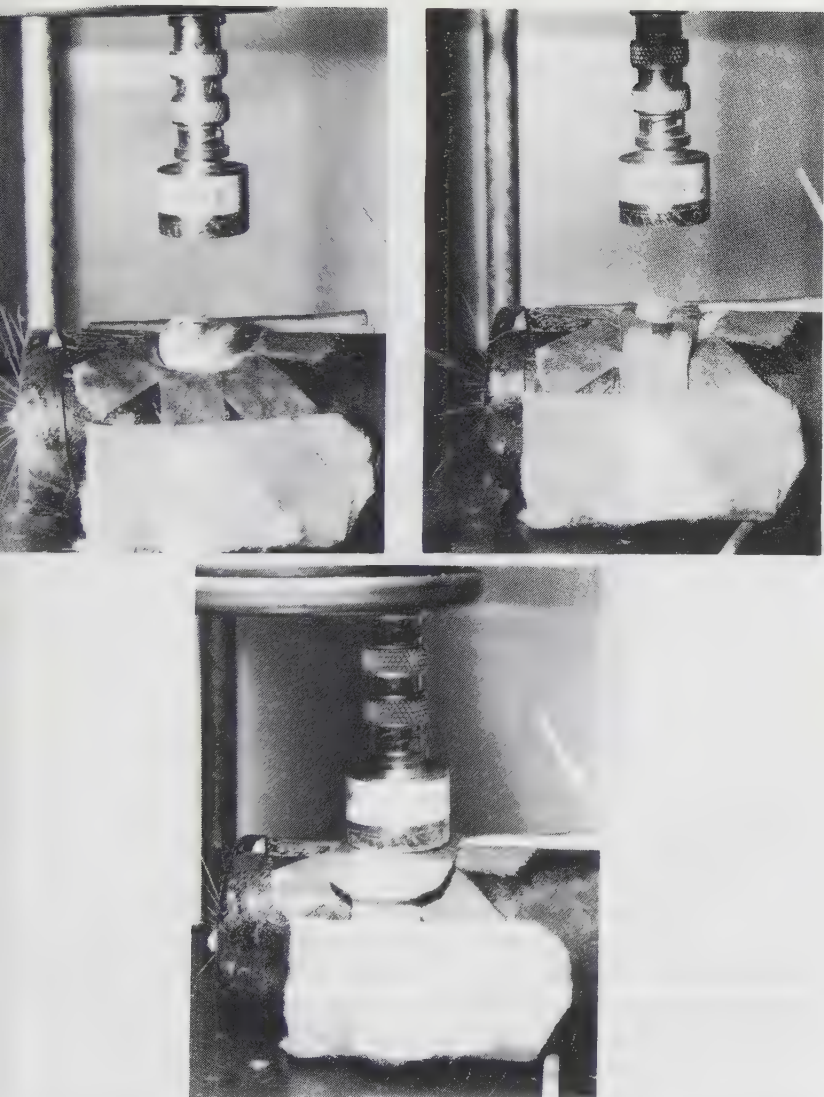


Abb. 4-6

Einrichten der Tumoroberfläche unter dem Detektor
Abstandshaltung mittels Bleiblen



Maus im pneumatischen Halter

4.4. Körpertemperatur der Versuchstiere

Die Körpertemperatur der Mäuse sank im Laufe des Versuches unter den Normalwert von $37,5^{\circ}\text{C}$ ab. Diese Feststellung wurde aufgrund der Symptomatik (kühler Körper, struppiges Fell, Zittern, langsame Bewegungen) getroffen, die die Tiere nach 3 h boten, wenn sie aus dem Halter genommen wurden. (Genauere Messungen (35) ergaben ein Absinken der Körpertemperatur bis auf 25°C während 3 h bei einer Zimmertemperatur von 23°C). Im übrigen wurde mittels eines dünnen Benzolthermometers, das sich leicht zwischen Tierkörper und Halter einschieben ließ, die Oberflä-

chentemperatur des Tieres gemessen und die Wärmezufuhr eines Heiztisches (Histologie-Strecktisch) so eingeregelt, daß das Thermometer einen konstanten Wert zwischen $36,8^{\circ}\text{C}$ - $37,0^{\circ}\text{C}$ anzeigte. Die genaue Körpertemperatur auf rectalem Weg zu messen, war wegen der Größe der verfügbaren Thermometer nicht möglich. Daher wurde die Oberflächentemperatur benutzt, um die Wirkung der Heizeinrichtung zu überwachen (s. a. Abb. 2).

5. TIEREXPERIMENTE

5.1. Methodik

5.1.1. Tiermaterial

In den Versuchen wurden männliche weiße Mäuse vom Stamm NMRI-Kisslegg der Firma Ivanovas, Kisslegg/Allg. benutzt. Sie wurden in Makrolonkäfigen gehalten und mit Fertigfutter in Pelletform der Marke "sniff" sowie Wasser ad libitum ernährt. Dem Trinkwasser war zur Desinfektion 0,005 % Chloramin zugesetzt. Das Gewicht der Tiere betrug zur Zeit der Lieferung 18 - 20 g, zur Zeit der Versuche 25 - 30 g.

5.1.2. Tumormaterial

Experimentaltumor war der Ehrlich-Tumor; außer diesem wurden noch Crocker-Sarkom 180 und das spontan in C_3H Mäusestämmen auftretende Mammarkarzinom auf ihre Brauchbarkeit für Anreicherungsstudien untersucht.

S-180 schied wegen seines schnellen Wachstums und der ausgeprägten Nekroseneigung aus. Ab ca. 2 g Gewicht bestand der Tumor zum überwiegenden Teil aus hämorrhagischen Nekrosen, die von einem randständigen Saum nekrosefreien Tumorgewebes umgeben wurden (makroskopische Befunde nach 121 Tumorsektionen). Die Mamma-Tumoren wuchsen sehr langsam, waren zur Zeit der Experimente nicht in voraussehbaren Quantitäten zu erhalten und zeigten histologisch einen unregelmäßigen Aufbau. Von undiffe-

renzierten Zellformationen bis zum Adenokarzinom mit cystisch aufgetriebenen Milchgängen konnten in gleichen Schnitten Übergänge beobachtet werden. Der Ehrlich-Tumor mit seinem gegenüber S-180 relativ langsamen Wachstum, dem einförmigen Bild eines undifferenzierten Karzinomes und der weniger stark ausgeprägten Nekroseneigung, erwies sich als brauchbarer Experimentaltumor. Inzwischen erzielte Erfolge mit der Verimpfung von spontanen Mamma-Ca. der C₃H-Tiere waren zur Zeit der Durchführung der Experimente noch nicht vorhanden. Die Gewinnung halbkugeliger, den Auslesekriterien (5.1.5.) genügende Tumoren war von der Geschicklichkeit beim Überimpfen abhängig. Um 10 verwendungsfähige Tumoren zu erhalten, mußten mindestens 20 Tiere mit der Tumorzellsuspension beimpft werden.

5.1.3. Gewinnung eines soliden Tumors

Aus Ehrlich-Ascites wurde durch Überimpfen in das subkutane Nackenbindegewebe von Mäusen ein solider Tumor gewonnen, der dann für weitere Passagen benutzt wurde.

5.1.4. Überimpftechnik

Der solide Tumor eines Spendertieres wurde unter sterilen Kautelen aus dem Nackenbindegewebe entnommen und in eine Petrischale mit phys. Kochsalzlösung gelegt. Nachdem der Tumor von äußerlich anhängenden Binde- und Fettgewebsresten befreit worden war, wurde er zur Entfernung der zentral gelegenen Nekrosen aufgeschnitten. Die randständigen Zellschichten wurden in 2 - 4 mm große Stücke zerschnitten und vorsichtig durch ein Kunststoffsieb gestrichen. Der entstandene Tumorzellbrei wurde in einer Petrischale aufgefangen und soweit mit phys. Kochsalzlösung verdünnt, daß er sich leicht in einer Tuberkulinspritze aufziehen ließ. 0,1 ml dieser Zellsuspension wurde in die mit zwei Fingern angehobene Falte im Nackenfell der Tiere gespritzt.

5.1.5. Auslese Kriterien

Um - soweit es sich bei biologischen Objekten realisieren ließ - ein möglichst gleichmäßiges Material für die Versuche bereitzustellen, wurden die Tumoren nach folgenden Kriterien ausgelesen: Die Größe durfte 2 ml nicht überschreiten, die Konsistenz mußte fest sein und der angenäherte halbkugelige Tumor mußte sich gut gegen die Haut und die Rückenmuskulatur des Tieres verschieben lassen. Die Haut über dem Tumor durfte keine pathologischen Veränderungen (Ulceration, Tumordinfiltration, Entzündungen) aufweisen.

5.1.6. Volumenbestimmung der Tumoren

Die Volumenbestimmung erfolgte durch Tastvergleiche mit ähnlich geformten Paraffinmodellen in aufsteigender Größe von 0,1 - 10,0 ml. Einen Vergleich zwischen geschätztem Volumen und nach Sektion festgestelltem Gewicht zeigt Abb. 8. Die Tumorumfängenbestimmung ist also hinreichend genau. Die Mittelwertkurve des Wachstums zeigt Abb. 9.

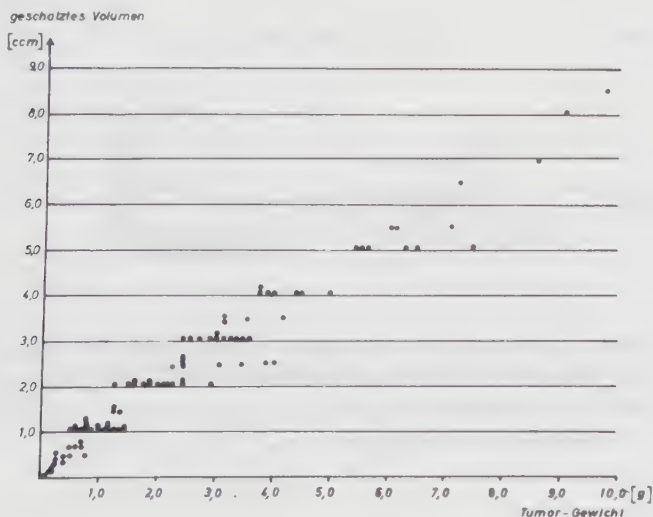


Abb. 8

Zusammenhang zwischen geschätztem Tumorumfang (Paraffinmodell) und nach der Sektion ermitteltem Gewicht.

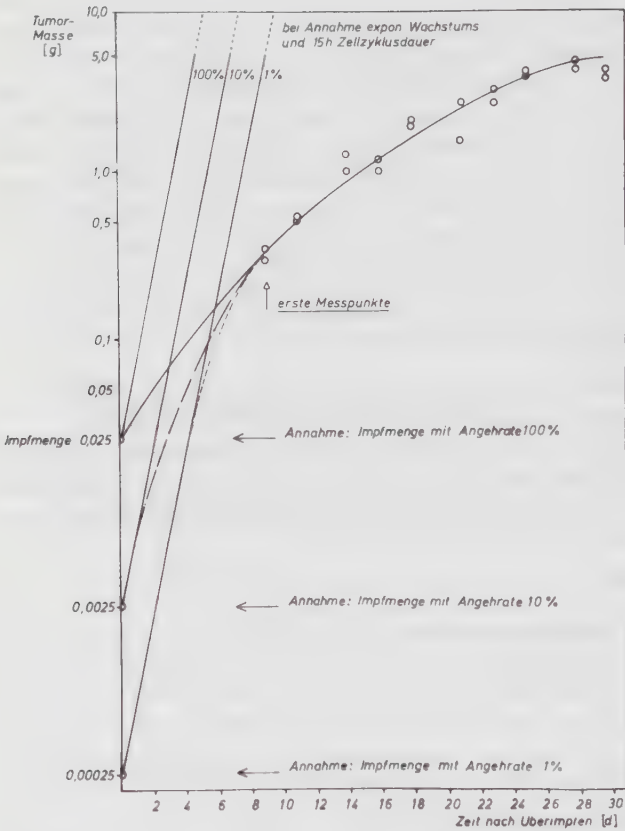


Abb. 9

Experimentell erhaltene Wachstumskurve des Ehrlich-Tumors (o - o) im Vergleich zu eingezeichneten exponentiellen Wachstumskurven, letztgenannte bei Annahme verschiedener Angehraten der transplantierten Zellen.

5.1.7. Bestrahlung der Tumoren und Bestrahlungsgerät

Die Tumoren wurden mit einer Einschlagbestrahlung von 1-4 kR bei 150 kV, 11 mA, 0,5 mm Cu-Filter und 0,65 mm CuHWS tangential bestrahlt. Die Dosisleistung betrug bei 30 cm FHA 80 R/min. Jeweils nach der Hälfte der Dosis wurde das Tier um 180 Grad gewendet, um die andere Seite des Tumors der Strahlung auszusetzen. Der Tierkörper fand durch 2,0 mm dicke, entsprechend geformte Bleiplatten Schutz vor der direkten Strahleneinwirkung.

Diese Art der Bestrahlung eines Experimentaltumors gewährleistete eine homogenere Durchstrahlung sowie einen größeren Schutz des Wirtstieres als die CHOULsche Nahbestrahlung von dorsal (34).

Ein Schema und eine Ansicht der Bestrahlungsanordnung sind in Abb. 10 und 11 gezeigt.

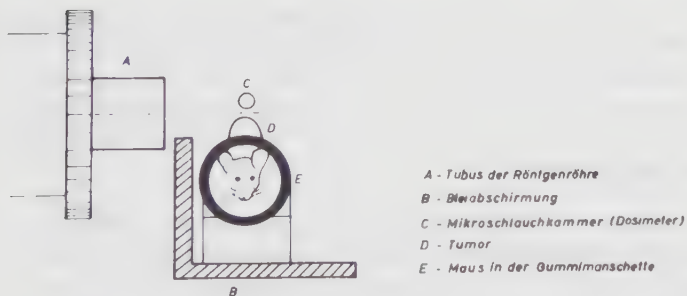


Abb. 10

Schema der Bestrahlungsanordnung zur tangentialen Bestrahlung der Tumoren.

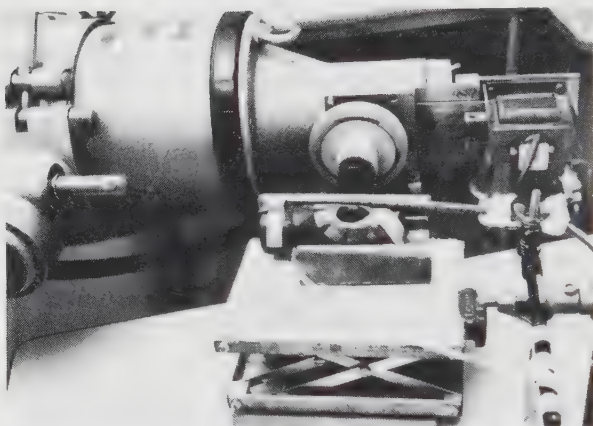


Abb. 11

Übersichtsaufnahme der Bestrahlungsanordnung

Die Bestrahlungen wurden mit einer Röntgenröhre vom Typ "Müller MÖD 150" ausgeführt. Die Dosimetrie erfolgte mit einer Mikroschlauchkammer und dem Simplex-Dosimeter der PTW, Freiburg i. Br., geeicht wurde das Dosimeter mit einem Radiumstandard.

5.1.8. Radiophosphor

Der Radiophosphor (^{32}P) wurde von der Firma Farbwerke Hoechst trägerfrei als Natriumphosphat (PO_4^{---}) in isotonischer Kochsalzlösung geliefert. In den Versuchen wurde eine Aktivität von $2\ \mu\text{Ci}$ benutzt, die in $0,1\ \text{ml}$ einer entsprechenden Verdünnung enthalten war. Der maximale Fehler der Aktivitätsangabe betrug ca. $\pm 10\ \%$ und schließt Verdünnungsfehler sowie Einstellungsschwankungen der Stammlösung ein (35). Folgende Überschlagsrechnung zeigt, daß für die Versuche nur Tracer-Mengen von Phosphat in den Organismus der Maus gelangen (37): Die Gewichtsmenge des injizierten ^{32}P errechnet sich nach der Beziehung:

$$G = N \cdot \frac{M}{L} \quad (g)$$

dabei ist N = Zahl der Atome

M = Atomgewicht = 32 für ^{32}P

L = $6,02 \cdot 10^{23}$

N ist gegeben durch

$$N = \frac{T \cdot A}{\ln 2}$$

wobei T = Halbwertszeit (min)

(für ^{32}P : HWZ 20600 min)

A = Aktivität (Zerfall/min)

(für 2 μCi ^{32}P : A $4,4 \cdot 10^6$ Zerfälle/min)

Danach ergibt sich für 2 μCi ^{32}P

$$G = \frac{T \cdot A}{\ln 2} \cdot \frac{M}{L} \quad (g)$$

$$G = \frac{2,06 \cdot 10^4 \cdot 4,4 \cdot 10^6 \cdot 32}{0,693 \cdot 6 \cdot 10^{23}} \quad (g)$$

$$G = \frac{2,06 \cdot 4,4 \cdot 32}{0,693 \cdot 6} \cdot 10^{-13} \quad (g)$$

$$G = 7 \cdot 10^{-12} \quad (g)$$

Bei einem Gesamtphosphorgehalt der Maus von ca. 0,06 g (15) beträgt also die injizierte Phosphormenge ca. $10^{-8} \%$ der vorhandenen, und stellt somit keine Belastung des Phosphorstoffwechsels dar.

5.1.9. Injektionstechnik

Drei Wege der ^{32}P -Applikation wurden untersucht, die intravenöse, intraperitoneale und intramuskuläre Injektion.

Nach der intravenösen Gabe (Abb. 12) erschien das Impulsmaximum sofort, nach intramuskulärer (Abb. 13) und intraperitonealer Injektion bildete es sich nach durchschnittlich 23 Minuten aus. Die technischen Schwierigkeiten, eine der vier Schwanzvenen der Maus zu punktieren, Treffsicherheit bis 80 %, hielten von einer routinemäßigen Anwendung ab.

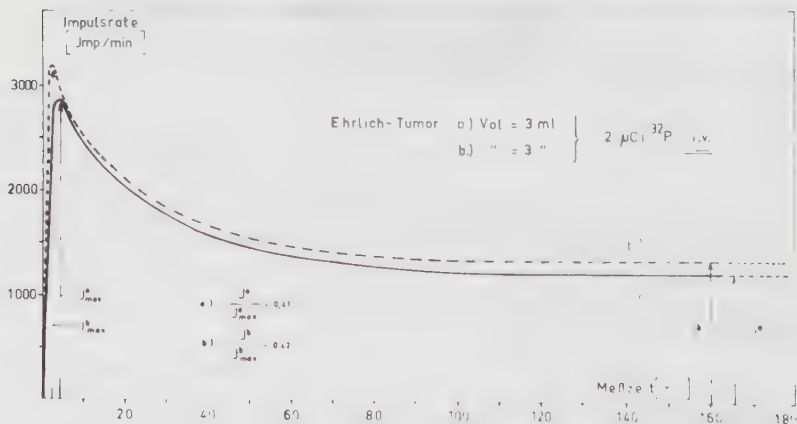


Abb. 12

Darstellung des ^{32}P -Anreicherungsverlaufes im EAT nach i.v. Applikation (35)

Verglichen mit der i.p. Injektion herrschen bei der i.m. Injektion konstantere Resorptionsverhältnisse (29), daher wurde der ^{32}P in den Vor- und Hauptversuchen intramuskulär in den Oberschenkel der Versuchstiere gegeben.

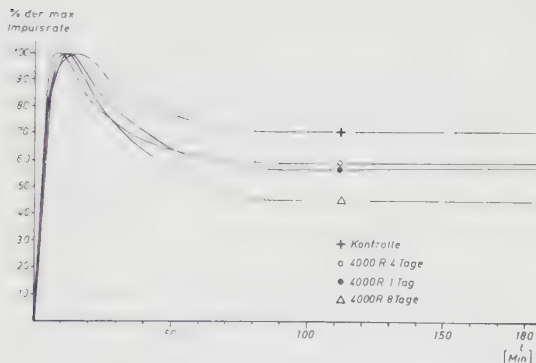


Abb. 13

Darstellung des ^{32}P -Anreicherungsverlaufes bei i.m. Applikation an bestrahlten und unbestrahlten Tumoren.

5.1.10. Auswertungskriterien

Die Messung des Aktivitätsverlaufes über dem Tumor bei i.m. Injektion ergab die schon in Abb. 13 beschriebenen typischen Kurven, die nach folgenden Gesichtspunkten ausgewertet wurden:

- Maximale Impulsrate
- Zeit bis zum Maximum der Impulsrate
- Quotient aus Impulsrate nach 3 h / Impulsratenmaximum.

Weiterhin wurden die Kurven auf den Einfluß der Tumorgroße und des Tumormaterials hin untersucht. Als Auswertungskriterium wurde hierbei der genannte Quotient (Imp. 3 h / Imp. Max.) verwendet. Das Tumoralter besitzt keinen Einfluß auf den zur Auswertung herangezogenen Quotienten (Abb. 14). Maximale Impulsrate und Zeit bis zum Erreichen des Maximums stellten sich wegen ihrer Abhängigkeit von der Tumordurchblu-

tung, der Injektionstechnik, der Resorptionsgeschwindigkeit des ^{32}P aus dem Muskel und dem Detektor-Haut-Abstand als zur Auswertung ungeeignet heraus.

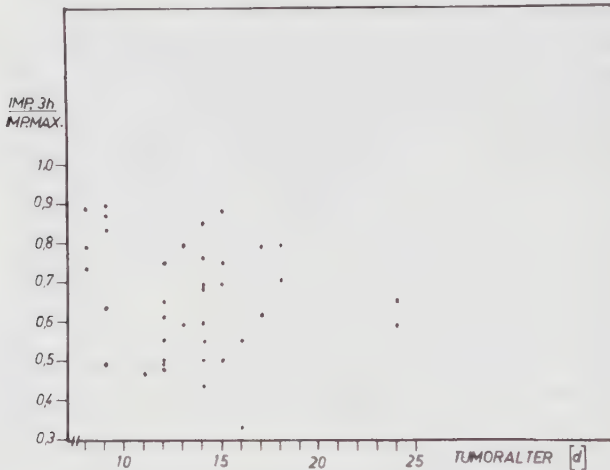


Abb. 14

Unsystematische Verteilung von Quotient (Imp. 3h/Imp. Max.) in Abhängigkeit vom Tumoralter. (Messung an unbestrahlten Ehrlich-Tumoren)

Im Einzelexperiment ließen sich diese Faktoren zwar konstant halten. In nachfolgenden Experimenten traten bei gleicher injizierter ^{32}P -Menge aber Abweichungen in der Höhe der maximalen Impulsrate und der Zeit bis zum Erreichen des Impulsratenmaximums auf. Das Impulsratenmaximum wird hauptsächlich durch die im Bindegewebe zwischen Tumor und Haut verlaufenden Blutgefäße verursacht. Es läßt sich schlecht zur Auswertung heranziehen, weil die Ausbildung der den Tumor ernährenden Gefäße, wie die Sektionsbefunde zeigen, starken Schwankungen unterworfen ist und nicht die uns in-

interessierende Eigenschaft - Veränderungen der ^{32}P -Anreicherung - des Tumorgewebes repräsentiert.

Die Impulszahl im horizontalen Teil der Kurve stellt demgegenüber ein Maß für die im Tumor verbleibende Aktivität und damit eine prinzipiell interessierende Information dar. Indessen bestehen die o. a. Schwierigkeiten der Reproduktion, die geraten erscheinen lassen, nach einer Auswertungsgröße zu suchen, die von der Impulsausbeute unabhängig ist. Der Quotient aus den beiden markanten Punkten der Anreicherungskurve (Impulsratenwert nach 3 h/ Impulsratenmaximum) wurde auf seine Brauchbarkeit hin untersucht. In aufeinanderfolgenden Experimenten zeigen sich Änderungen sowohl der Impulsrate im gefäßbedingten Gipfel, als auch im horizontalen Teil der Kurve, nur das Verhältnis (Impulsrate nach 3 h/Impulsratenmaximum) bleibt mit statistischer Schwankung charakteristisch erhalten und läßt sich unabhängig von der Höhe der gemessenen Impulsrate vergleichen. Dieses Impulsverhältnis, kurz als "Quotient" oder "Imp. 3 h/Imp. Max." bezeichnet, zeigte für die Individualität eines Tumors oder eines Tumorortes (35) charakteristische Größen und signifikante Unterschiede zwischen bestrahlten und unbestrahlten Tumoren. In den nach Bestrahlung untersuchten Zeiträumen, 0 - 8 Tage (Tab. 1), reagiert das relativ strahlensensiblere (bezogen auf die zeitlich unterschiedlich einsetzende Strahlenreaktion von Haut, Blutgefäßen und Bindegewebe einerseits und des Tumors (Ehrlich-Karzinom) andererseits) Tumorgewebe schneller als darüberliegende Haut und Blutgefäße.

Der Gipfel der Meßkurve kann mit Vorsicht als wenig verändert betrachtet werden, während sich die Bestrahlung auf die ^{32}P -Aufnahme des Tumors und damit auf die Impulszahl im horizontalen Teil der Meßkurve auswirkt. Daher erscheint der Quotient aus den beiden typischen Punkten der Kurve (Impulszahl nach 3 h/Impulsmaximum) als relevantes Maß für Veränderungen im Tumor und damit zur Auswertung der erhaltenen Ergebnisse.

5.1.11. Einfluß der ^{32}P -Anreicherung in der Haut

Bei der Messung des Aktivitätsverlaufes von außen liegt Haut zwischen Tumeroberfläche und Detektor. Um festzustellen inwieweit Absorption und Anreicherung des ^{32}P in der Haut die Bruttoanreicherung beeinflussen, wurden folgende Experimente unternommen: In 12 Versuchen wurde beim Evipan-narkotisierten Tier (Narkosedosis 25 mg/100 g Maus) die Haut über dem Tumor längs eingeschnitten und seitlich abgeklappt. Zur Vermeidung von Flüssigkeitsverlusten wurde der Tumor mit einer feuchten Cellophanfolie abgedeckt. Über dem freiliegenden Tumor wurde der Detektor eingestellt. Die Meßanordnung blieb wie vorher beschrieben, nur ein Teil der Detektorzählfläche wurde mit einer Bleiblende, die einen um 2 mm geringeren Durchmesser aufwies als die Detektorzählfläche, ausgeblendet, um die β -Teilchen aus den Randgebieten des Operationsfeldes abzuschirmen (35).

Die am freigelegten Tumor gemessene Kurve steigt bis zur 50. - 60. Minute langsam an und geht dann in die Horizontale über (Abb. 15). Das typische Maximum, das bei den mit Haut bedeckten Tumoren gemessen wird (vgl. Abb. 16), fehlt also beim freigelegten Tumor.

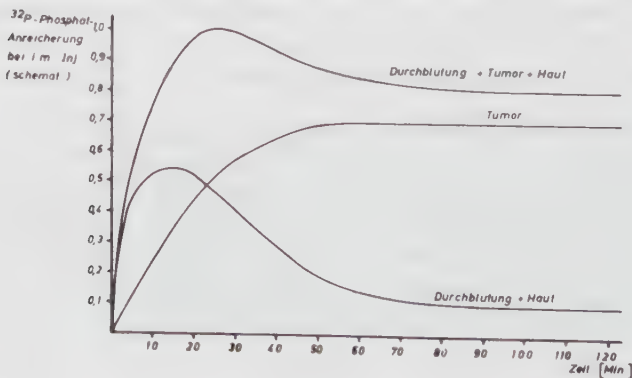


Abb. 15

Darstellung der Brutto- und Nettoanreicherung im Tumor (nach (35))

Der Tumor reichert ^{32}P stetig an. Das Maximum der bei hautbedeckten Tumoren gemessenen Kurven wäre demnach dem Einfluß der Haut und der Durchblutung zuzuschreiben. Durch Subtraktion der Kurve "Tumor" (ohne Haut) von der Kurve "Durchblutung + Tumor + Haut" läßt sich die Anreicherung in der Haut und die Durchblutung qualitativ beschreiben (Abb. 15).

Die normalerweise gemessenen Anreicherungskurven bestehen demnach mindestens aus drei Komponenten. Der steile Anstieg nach der i. m. Injektion läßt sich der sofort einsetzenden ^{32}P Verteilung im Blut zuschreiben.

Bereits nach ca. 23 Minuten beginnt sich ein Gleichgewicht zwischen Blut und Gewebe einzustellen und ^{32}P reichert sich zunehmend im Tumorgewebe, in der Haut über dem Tumor und in anderen Körperteilen an. Nach 90 Minuten ist praktisch ein gewisses Gleichgewicht der Gesamt-Phosphorverteilung vorhanden, das sich im weiteren Verlauf des Experimentes bis zur 180. Minute nicht mehr meßbar ändert.

Ergänzend wurden noch Experimente durchgeführt, um festzustellen, welchen Einfluß das im Tumor vorhandene Blut auf die Anreicherungskurve besitzt. Bei 6 Tieren wurde nach 100 minütiger Meßdauer die arteria carotis geöffnet. Nachdem die Tiere entblutet waren, zeigte sich keine Änderung der Aktivität im Tumor. Das bedeutet, daß nach 60 Minuten, also im horizontalen Teil der Kurve, die gemessene Aktivität der des im Tumor aufgenommenen Radiophosphors entspricht (35).

5.1.12. Statistische Rechenmethoden

Aus den Einzelergebnissen des Experimentes wurde der Mittelwert nach Formel 1 und dessen Standardabweichung nach Formel 3 berechnet. Formel 2 stellt die Varianz dar. Ihr Wurzelwert ist die Standardabweichung der Einzelwerte. Die Signifikanz der Mittelwerte wurde nach dem t-Test (Formel 4) geprüft (5).

$$(1) \quad \bar{x} = \frac{\sum x_i}{N}$$

$$(2) \quad S_M^2 = \frac{\sum (x_i^2) - \frac{(\sum x_i)^2}{N}}{(N - 1)}$$

$$(3) \quad S_{st} = \sqrt{\frac{S_M^2}{N}}$$

$$(4) \quad t = \frac{(\bar{M}_1 - \bar{M}_2)}{\sqrt{S_{st1}^2 + S_{st2}^2}}$$

5.1.13. Meßbereich des Detektors im Tumor

Wesentlich für die Interpretation der gemessenen Werte ist, sich zu vergegenwärtigen, wie tief der über dem Tumor angebrachte Detektor "hineinsehen" kann (maximale Reichweite der β -Teilchen von ^{32}P ist ca. 0,8 cm im Gewebe). Von seiner 0,8 - 1,8 cm² großen Zählfläche wurden nur die von der Haut, der oberflächlichen Tumor-Blutversorgung, dem Bindegewebe und den oberen Tumorzellschichten ausgehenden β -Teilchen erfaßt. β -Teilchen, die aus mehr als 7 mm tief liegenden Tumorschichten stammen, werden nicht mehr gezählt, da die über dem Tumor liegende Haut sowie die praktisch zu vernachlässigende Aluminiumfolie (35) als Absorber wirken.

Abb. 16 zeigt schematisch für gegebene Detektor- und Tumorgeöße und konstante Geometrie gemäß der Versuchsanordnung (vgl. Abb. 4 - 6), das maximale Meßvolumen im Tumor, aus welchem β -Teilchen bei Annahme senkrechten Einfalls auf den Detektor gemessen werden können. Das effektive Zählvolumen ist wesentlich kleiner, da die Selbstabsorption der β -Teilchen im Tumor erheblich ist. Mit Sicherheit kann davon ausgegangen werden, daß die Zentralnekrose keinen Einfluß auf das Meßergebnis haben wird.

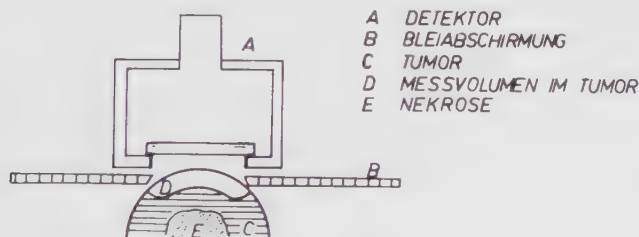


Abb. 16

Idealisierte Darstellung des Detektormessvolumens im Tumor

5.2. Vorversuche mit bestrahlten und unbestrahlten Tumoren

Wie bereits in Abschnitt 3. erwähnt, wurden in einer größeren Serie von Vorversuchen an unbestrahlten und bestrahlten Tumoren Meßtechnik und Versuchsabsicht getestet (ca. 100 Tiere). An unbestrahlten Tumoren wurde die Inkorporationsdynamik verfolgt, und es zeichneten sich dabei charakteristische Kurvenverläufe ab, die ihren Ausdruck in dem unter 5.1.10. beschriebenen Bewertungskriterium fanden. Tumoren, die den unter 5.1.5. genannten Auswahlkriterien genügten, wurden darüberhinaus mit Dosen von 500 - 5000 R bestrahlt. Die ^{32}P -Injektion mit anschließender Messung erfolgte im Abstand von 5 min -

8 d nach der Bestrahlung. Je größer die Bestrahlungsdosis und je länger der Zeitraum zwischen Bestrahlung und Messung gewählt wurde, um so tiefer lag im Mittel der Wert des Quotienten unter Werten, die an den o. e. unbestrahlten Tumoren gewonnen wurden. Für die Hauptversuche wurden daher 3 Bestrahlungsdosen in geometrischer Reihe gewählt.

Die Zeiträume zwischen Bestrahlung und Messung wurden von 0 - 8 d variiert (vgl. Tab. 1).

Dosis	Pause nach Bestrahlung						
	0d	1d	2d	3d	4d	5d	8d
0 R	KONTROLLEN						
	$\bar{x} = 0,7 \pm 0,02 \quad n = 92$						
1000 R	$\bar{x} = 0,7$ $\pm 0,04$	$\bar{x} = 0,57$ $\pm 0,04$	$\bar{x} = 0,65$ $\pm 0,05$	$\bar{x} = 0,66$ $\pm 0,02$	$\bar{x} = 0,58$ $\pm 0,03$	$\bar{x} = 0,51$ $\pm 0,06$	$\bar{x} = 0,55$ $\pm 0,04$
	n = 5	n = 8	n = 6	n = 8	n = 7	n = 9	n = 7
2000 R	$\bar{x} = 0,74$ $\pm 0,04$	$\bar{x} = 0,57$ $\pm 0,02$	-	$\bar{x} = 0,58$ $\pm 0,01$	-	$\bar{x} = 0,50$ $\pm 0,04$	$\bar{x} = 0,55$ $\pm 0,03$
	n = 4	n = 10		n = 10		n = 5	n = 6
4000 R	-	$\bar{x} = 0,57$ $\pm 0,06$	-	-	$\bar{x} = 0,60$ $\pm 0,03$	$\bar{x} = 0,54$ $\pm 0,03$	$\bar{x} = 0,39$ $\pm 0,04$
		n = 6			n = 6	n = 8	n = 5

Tab. 1

Übersicht über Versuchsanlage und Ergebnisse der Bestrahlungsexperimente

5.3. Hauptversuche

Die Hauptversuche bestanden aus 139 Einzelexperimenten (103 bestrahlte Tumoren und 36 unbestrahlte Kontrollen, die zur Zeit der Hauptversuche gemessen wurden), die im Zeitraum August bis Dezember 1966 ausgeführt wurden. Das Versuchsschema für die Hauptversuche zeigt Tab. 1.

Die einzelnen Gruppen (je Bestrahlungsdosis und Zeitintervall bzw. unbestrahlte Kontrollen) waren dabei mit 4 - 10 bzw. 36 Tieren besetzt. Das Tumormaterial war gleichmäßig und genügte in allen Punkten den unter 5.1.5. genannten Auslese Kriterien. Kontrollmessungen und Bestrahlungsexperimente, auch für die verschiedenen Dosen, wurden willkürlich über den o. g. Zeitraum verteilt und nach Beendigung der Untersuchungen gemäß dem Versuchsschema zusammengestellt. Es sollten hierdurch eventuelle Zufälligkeiten durch Tierhaltung, Tierversuche, Wetter und Jahreszeit vermischt werden.

5.3.1. Unbestrahlte Kontrollen

Um die Strahlenwirkung auf die ^{32}P -Inkorporation unterschiedlich bestrahlter Tumoren messen zu können, muß das Normalverhalten des ^{32}P -Einbaues bei Ehrlich-Tumoren als Vergleichsbasis untersucht werden. Unter Beachtung der Auswahlkriterien (5.1.5.) wurde mit der beschriebenen Versuchsanordnung an 36 unbestrahlten Tumoren die ^{32}P -Anreicherung verfolgt. Die erhaltenen Werte für die Quotienten zeigt Abb. 17, Abschn. A. Die Häufigkeitsverteilung ist augenscheinlich doppelgipflig. Nach statistischer Betrachtung resultieren 2 Mittelwerte von $0,56 \pm 0,024$ und $0,78 \pm 0,02$, die sich mit mehr als 99 %iger statistischer Sicherheit als signifikant erwiesen. Trotz dieser eindeutigen statistischen Bewertung ist man geneigt, das Ergebnis aufgrund nicht hinreichender Stichprobenzahl mit Vorsicht zu betrachten. Die Experimente fanden im Zeitraum August 1966 bis Dezember 1966 statt. Ein Hinweis für jahreszeitlich bedingte oder andere Abhängigkeit der Verteilung ergab sich nicht.

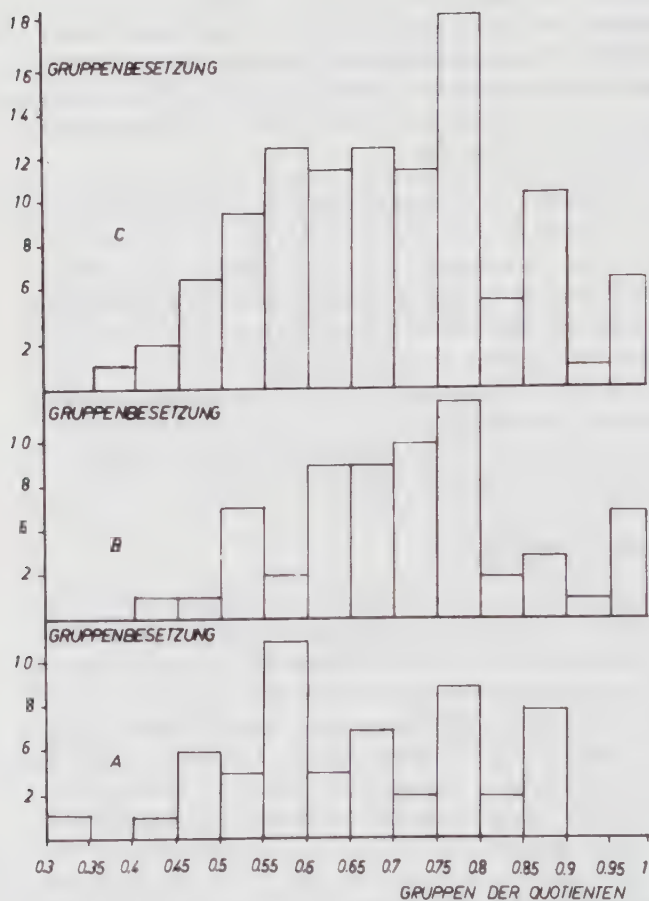


Abb. 17

Häufigkeitsverteilung der Quotienten bei unbestrahlten Tumoren
(STRACK: A, LINHART u. PFEIFF: B, Zusammenfassung von A und B: C)

Der Mittelwert der Gesamtstichproben beträgt $(0,67 \pm 0,05)$. Ein erneutes Experiment unter gleichen meßtechnischen Bedingungen mit Tumoren der gleichen Art, aber etwas größerer Besetzungszahl sollte weitere Klärung des Sachverhaltes bringen. LINHART und PFEIFF (32) erhielten bei einer Stichprobenzahl 57 die in Abb. 17, B dargestellte Häufigkeitsverteilung der Meßzahlen für die ^{32}P -Inkorporation.

Sie hat nur einen Mittelwert $(0,75 \pm 0,02)$. Dieser Wert liegt zwischen den beiden zuerst gemessenen, jedoch dem größeren Wert aus dem ersten Experiment am nächsten. Die Messungen an diesen Tumoren erstreckten sich über den Zeitraum Juli 1967 bis März 1968. Ergänzend zu diesem Experiment ließ sich zeigen, daß eine 24 h später am gleichen unbestrahlten Tumor wiederholte Messung der ^{32}P -Inkorporation im Mittel wieder den gleichen Wert ergab. ($Q_1 = 0,64 \pm 0,05$ ($n = 19$)), ($Q_2 = 0,69 \pm 0,05$ ($n = 19$)). Im Vorgriff auf entsprechende Experimente an bestrahlten Tumoren ist bemerkenswert, daß - verglichen an den Stichprobenzahlen - die Streuung der Quotienten der unbestrahlten Kontrolltumoren wesentlich größer ist als die der bestrahlten Tumoren (s. Tab. 1 und Abb. 18). Aufgrund dieser Tatsache, die sich bereits in den Vorversuchen abzeichnete, wurden die Besetzungszahlen für die zu bestrahlenden Tumoren klein gehalten (4-10), so daß möglicherweise eine Doppelverteilung der Quotienten der bestrahlten Tumoren wegen zu kleiner Stichproben nicht beobachtet werden konnte.

Die Möglichkeit der doppelverteilten Ergebnisse erscheint allerdings nach dem Ergebnis der Wiederholungsexperimente (LINHART und PFEIFF (32)) als unwahrscheinlich (vgl. Abb. 17, B), darum ist es sinnvoll, alle Kontrollen im Zusammenhang zu betrachten, und sie zu einer Gesamtgruppe zusammenzufügen (Abb. 2, C). Man erhält dann für den Quotienten der unbestrahlten Kontrollen einen hinreichend sicheren Mittelwert $(0,7 \pm 0,02)$ auf den später alle Ergebnisse an bestrahlten Tumoren bezogen wurden. Es ist noch keineswegs sicher erklärbar, warum die unbestrahlten Kontrolltumoren bezüglich ihrer ^{32}P -Speicherung im Vergleich

zu den bestrahlten Tumoren eine größere Streuung zeigen. Die geringeren Streuungen bei bestrahlten Tumoren könnten dadurch zustande kommen, daß die alle Tumoren gleichartig treffende strahleninduzierte Schädigung das Individualverhalten der Tumoren einschränkt, z. B. über die der Bestrahlung folgende Teilsynchronisation der Tumorzellpopulation.

5.3.2. Bestrahlte Tumoren

Das Ergebnis der ^{32}P -Inkorporation in den bestrahlten Tumoren zeigt Tabelle 1. In Abbildung 18 (Zusammenfassung) sind diese Ergebnisse den unbestrahlten Kontrollen graphisch gegenübergestellt.

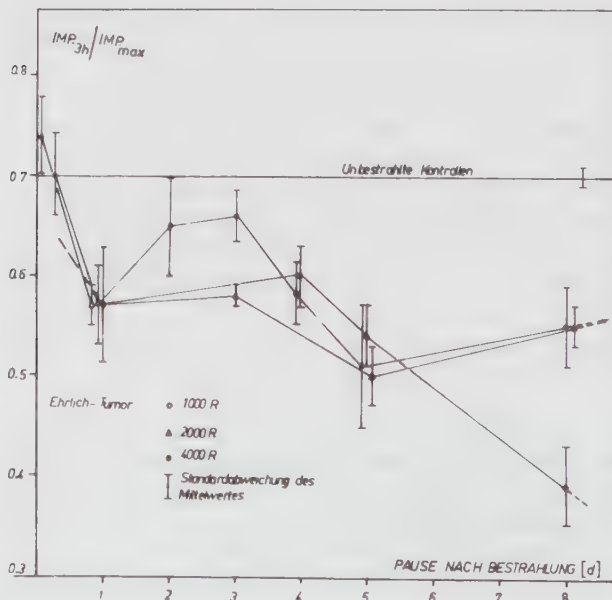


Abb. 18

Ergebnisse der Hauptversuche

Graphische Darstellung der Quotienten in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdosis und dem Zeitintervall zwischen Bestrahlung und Messung der Phosphatanreicherung sowie der dazugehörigen Kontrollen

Die Signifikanzprüfung ist in Tabelle 2 dargestellt. Zunächst ist die starke pausenabhängige Inkorporationsrate für alle drei Dosen mit unterschiedlicher Signifikanz parallel, erst jenseits des fünften Tages differiert die ^{32}P -Inkorporation in charakteristischer Weise. Die Inkorporationsrate bei 1000 R und 2000 R zeigt dann wieder zunehmende Tendenz, während mit 4000 R bestrahlte Tumoren weiterhin wenig Phosphat inkorporieren.

		1000 R								2000 R								4000 R							
		Pause nach $\frac{1}{2}$ (d)								Pause nach $\frac{1}{2}$ (d)								Pause nach $\frac{1}{2}$ (d)							
		0	1	2	3	4	5	6	0	1	2	3	4	5	6	0	1	2	3	4	5	6			
KONTROLLE		0,1	99,5	70	80	99,9	99,9	99,9	60	99,9	-	99,9	-	99,9	99,9	-	99,9	-	-	99,9	99,9	99,9			
1000 R	Pause nach $\frac{1}{2}$ (d)	0	60	60	60	95	95	95	60	70		98		99	98		90			90	98	98			
	1		80	80	10	50	70	98	40		10		30	30			1			30	50	99			
	2			20	70	20	80	80	80		80		80	80		70				55	95	99			
	3				95	95	90	90	98		99		99	98		70				85	99	99			
	4					70	40	98	30		5		80	50		10				20	70	99			
	5						40	98	60		75		10	40		50				70	40	90			
	6							98	30		40		70	5		50				60	5	98			
	8																								
2000 R	Pause nach $\frac{1}{2}$ (d)	0							99,5	99,9		99,9	99,5	95	95	95	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9			
	1									10		90	40	0	50	60	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9			
	2																								
	3												95	98	10	40	80	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9			
	4																								
	5													70	70	90	60	90	90	90	90	90			
	6																								
	8														20	70	20	99	99	99	99	99			
4000 R	Pause nach $\frac{1}{2}$ (d)	0																							
	1																			30	40	97			
	2																								
	3																								
	4																								
	5																								
	6																								
	8																								

Tab. 2

Signifikanzprüfung auf Differenz gemäß Abb. 18 nach dem t-Test. Angegeben sind die Sicherheitswahrscheinlichkeiten in Prozent (15)

Dieses letztgenannte Verhalten läßt sich aus der Erfahrung erklären, wonach mit 1000 R und 2000 R Einschlag bestrahlte Tumoren nach kurzer Zeit der Wachstumsstagnation wieder zu wachsen beginnen, während mit 4000 R bestrahlte Tumoren bei idealer Bestrahlungsmöglichkeit (d. h. vollständige Erfassung des Tumors während der Bestrahlung) verschwinden; es trat auch bei solchen Tumoren innerhalb der Lebenserwartung der Tiere kein Rezidiv auf. Bis jetzt noch nicht eindeutig erklärbar ist der mittlere Teil der Kurve, einschließlich der 1-Tage-Quotienten, die dosisunabhängig die gleiche Inkorporationsrate ergeben.

5.3.3. Ergänzende Untersuchungen

Wie bereits erwähnt, wurde aus biostatistischen Gründen der in 5.3.1. beschriebene Kontrollversuch wiederholt (32). Es wurde darüber hinaus dabei versucht, die Schwierigkeit der großen Streuung bei den Kontrollen als Bezugsgröße für Bestrahlungsexperimente dadurch zu umgehen, daß jeder zu bestrahlende Tumor zunächst als seine eigene Kontrolle gemessen wurde. Dividiert man danach die Quotienten nach Bestrahlung (Q_b) und vor Bestrahlung (Q_0), so ergibt sich für den Einzeltumor direkt die verminderte Inkorporation (vgl. Tab. 3).

Q ₀ Kontrolle	Bestrahlung (R)	Pause (d)	Q _b nach 4	Q _b /Q ₀
0,63	4000	0	0,65	1,03
0,68	4000	0	0,55	0,81
0,78	4000	0	0,58	0,74
0,83	4000	0	0,75	0,90
0,84	4000	0	0,54	0,64
0,75	4000	0	0,50	0,67
0,90	4000	0	1,00	1,11
0,64	4000	0	0,60	0,94
0,55	4000	0	0,45	0,82
0,60	4000	0	0,55	0,92
-	-	-	-	-
Q ₀ =0,71			Q _b =0,62	Q _b /Q ₀ =
± 0,036			± 0,049	0,86 ± 0,047
0,67	4000	1	0,55	0,82
0,60	4000	1	0,54	0,90
1,00	4000	1	1,00	1,00
1,00	4000	1	0,90	0,90
1,00	4000	1	0,78	0,78
0,75	4000	1	0,59	0,79
0,75	4000	1	0,70	0,93
0,92	4000	1	0,85	0,93
-	-	-	-	-
Q ₀ =0,84			Q _b =0,74	Q _b /Q ₀ =
± 0,057			± 0,061	0,88 ± 0,024
0,97	4000	8	0,63	0,65
0,70	4000	8	0,50	0,71
0,75	4000	8	0,65	0,87
0,75	4000	8	0,52	0,69
0,73	4000	8	0,57	0,78
0,81	4000	8	0,45	0,56
1,00	4000	8	0,78	0,78
0,81	4000	8	0,67	0,83
-	-	-	-	-
Q ₀ =0,81			Q _b =0,60	Q _b /Q ₀ =
± 0,039			± 0,037	0,73 ± 0,03

Tab. 3

³²P-Inkorporation bei Tumoren mit 4 000 R Einschlagbestrahlung
(Versuch nach (32), siehe auch Abb. 19 und Abschnitt 5.3.3.).

Die Quotienten (Q_b) der bestrahlten Tumoren zeigen etwas höhere Werte als die der eigenen Messungen. Dies wird darauf zurückgeführt, daß die Tumoren aufgrund ungeübter Überimpftechnik (Personalwechsel) tiefer im Nackenmuskel wuchsen und aufgrund besserer Gefäßversorgung einen höheren ^{32}P -Anteil aufwiesen, der dem Blutkompartiment zugehört, als Tumoren, die locker verschieblich zwischen Haut und Oberfläche des Nackenmuskels lokalisiert waren. Der Trend des Ergebnisses ist jedoch den eigenen Versuchsdaten vergleichbar (Abb. 19).

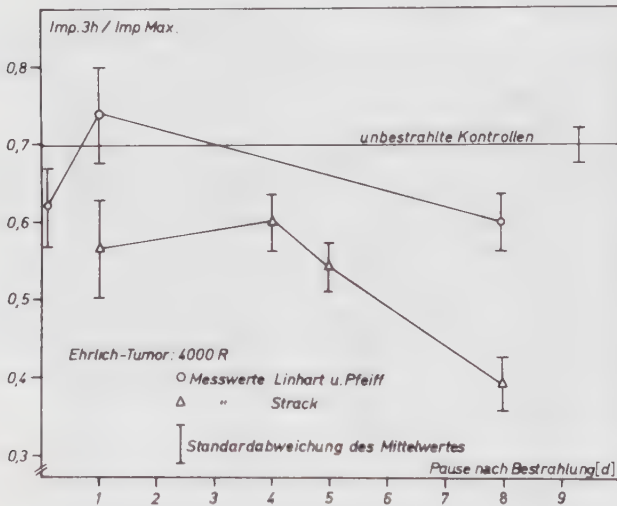


Abb. 19

Vergleich des Quotientenverlaufes bei einer Bestrahlung mit 4000 R (LINHART u. PFEIFF (32), STRACK); vgl. auch Abb. 18)

6. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die von außen über der Haut mittels Halbleiterdetektoren durchgeführten Messungen der ^{32}P -Phosphatanreicherung an Tumoren ergaben typische Kurven mit einem Maximum, das bei unbestrahlten Tumoren im Mittel nach 23 Minuten registriert wurde und einem Übergang in einem horizontalen Verlauf von der 90. bis 180. Versuchsminute. Ähnliche Kurven wurden veröffentlicht (33), die nach ^{32}P -Applikation die Oberflächenaktivität über Mammacarcinomen registrierten; ein nach 10 Minuten erscheinendes Impulsmaximum geht bis zur 140. Meßminute langsam in eine Horizontale über. Die Autoren bauten ihre Versuche auf den Ergebnissen von (27 und 28) auf, nach denen (wie bereits eingangs erwähnt) ^{32}P länger in neoplastischem Gewebe verbleibt als in Normalgewebe und in höherer Konzentration in den Kernen von normalen und malignen Zellen vorkommt als im Cytoplasma.

Die Ähnlichkeit der ^{32}P -Verteilungskurven früherer Autoren mit den vorliegenden Ergebnissen läßt sich in erster Näherung am Modell eines offenen Zwei-Kammer-Systems (parallel geschaltete Kompartimente) erklären (44). Dieses Modell läßt sich aber nur bedingt zur quantitativen Erfassung der ^{32}P -Verteilung anwenden. Eine Kammer, nämlich das intravasale Volumen, ist bekannt, die dazu parallel geschaltete Kammer, der Tumor, ebenfalls. Da aber noch weitere Kammern vorhanden sind, deren Einfluß aber nicht genau bekannt ist, gestaltet sich die quantitative Berechnung der einzelnen Verteilungsgrößen schwierig. Die Kurven verschiedener Autoren ähneln sich, weil die ^{32}P -Verteilung im Gewebe bei den untersuchten Warmblütern offenbar gleichen Prinzipien unterliegt.

Die mit dem Detektor bis maximal aus 7 mm Gewebetiefe beobachtbaren Aktivitätsänderungen nach ^{32}P -Gabe setzen sich aus mindestens drei Vorgängen zusammen:

- a) Initialer durchblutungsbedingter Aktivitätsanstieg
- b) Absinken der Aktivität bis zum horizontalen Verlauf durch ^{32}P -Abstrom aus dem Blut in mehrere Kammern (u. a. Tumor)

c) Hautanreicherung.

Der Quotient aus Impulsrate nach 3 h dividiert durch Impulsratenmaximum stellt, wie in Kapitel (5.1.10) dargelegt, ein Maß für die im Tumor verbliebene Aktivität dar. Zur Deutung der nach 3 h im Tumor verbleibenden Aktivität müssen die Ergebnisse verschiedener Autoren herangezogen werden. (27 und 28) fanden, daß ^{32}P schneller in metabolisch aktives Gewebe, wie regenerierende Leber, Knochenmark und Tumorgewebe, aufgenommen und dort länger zurückgehalten wird. Der Radiophosphor wurde in höherer Konzentration in den Kernen normaler oder neoplastischer Zellen gefunden als im Cytoplasma (7). Die erhöhte Aktivitätskonzentration des Tumorgewebes wurde auf die erhöhte Mitoserate bezogen (14), die ^{32}P -Aufnahme im Mamma-Ca. war 2 - 7 mal größer als die des normalen Mamma-Gewebes.

Die höchste ^{32}P -Konzentration einer einzelnen Zelle fanden (23) zur Zeit der Prophase, korrelierend mit dem Maximum der DNS-Konzentration. Weiterhin wurde auf die Rolle des ^{32}P in der Zellatmung und der Glucosephosphorylierung hingewiesen sowie der Zusammenhang zwischen Glykolyse und Nucleinsäuresynthese diskutiert. Da der Phosphor nicht für einen einzelnen Stoffwechselvorgang spezifisch ist, sondern in vielen energieliefernden und -verbrauchenden Reaktionen vorkommt, läßt sich mit Vorsicht der Ansatz aussprechen, daß zu Zeiten erhöhter Syntheseleistungen auch vermehrt Phosphor in der Zelle anzutreffen sein dürfte.

Der Halbleiterdetektor registriert aus dem bis 7 mm tiefen Meßbezirk des Tumors die Aktivität im Tumorgewebe, wobei hohe bzw. niedrige Impulsraten mit mehr oder weniger stoffwechselaktiv zu interpretieren wären.

Reaktionsschritte, an denen ^{32}P teilnimmt, die aber zu keiner Konzentrationsänderung von ^{32}P führen, können von dem Detektor nicht erfaßt werden. Nach den unter (5.1.10.) diskutierten Sachverhalten läßt sich der Gipfel der Meßkurve der Tumordurchblutung zuschreiben. Die Höhe des horizontalen Teiles der Meßkurve

hängt davon ab, in welchem Ausmaß der Tumor ^{32}P aufnimmt und in Stoffwechselprozesse einschleust. Das Absinken oder Ansteigen zum Quotienten der unbestrahlten Gruppe kann demnach als Ausdruck einer Strahlenschädigung und eines sich anschließenden, verschiedene Prozesse enthaltenden Erholungsvorganges gedeutet werden. Je nach mehr oder weniger massiver Bestrahlung von Zellen bzw. einer Zellpopulation werden folgende Zustandsbilder unterschieden:

Stagnation der Zellvermehrung, intrazelluläre Erholung, Synchronisation der Zellteilung, Reparation (vgl. hierzu die ausführliche Darstellung von RAUSCH (38)).

Wie Abb. 18 zeigt, fällt das Bewertungskriterium für die ^{32}P -Inkorporation einen Tag nach Bestrahlung dosisunabhängig auf den gleichen Wert, was heißt, daß die Schwellendosis zur Hemmung vieler ^{32}P -abhängiger Stoffwechselvorgänge wahrscheinlich noch unter 1000 R liegt. Dem entspricht, daß HARBERS (21) nach lokaler Bestrahlung des Mäusesarkoms 180 eine ab 1000 R fast dosisunabhängig verlaufende Einbauhemmung des ^{32}P fand. Eine Dosiserhöhung verursacht keine Änderung der ^{32}P -Inkorporation: hierbei wird angenommen, daß Bestrahlungseffekte z. B. in der Haut über dem Tumor innerhalb 24 h nach Bestrahlung keinen Einfluß zeigen (vgl. 35).

Die Deutung des in Abb. 18 gezeigten Kurvenverlaufes läßt sich zwar nicht exakt quantitativ durchführen, da die zur Entstehung des komplexen Kurvenverlaufes beitragenden Prozesse nur einer quantitativen A b s c h ä t z u n g zugänglich sind, deren numerisches Ergebnis erheblich von quantitativen Annahmen abhängt. Indessen lassen sich die teils gleichzeitig, teils in zeitlicher Abfolge ablaufenden Prozesse aufgrund bekannter strahlenbiologischer Ergebnisse charakterisieren. Damit wird eine grundsätzliche Deutung der in Abb. 18 gezeigten Kurven ermöglicht. Abb. 20 a - e zeigt eine schematisierte Verlaufskurve (a) gem. Abb. 18 und die vier zu diesem Verlauf beitragenden Komponenten (b - e) schematisch.

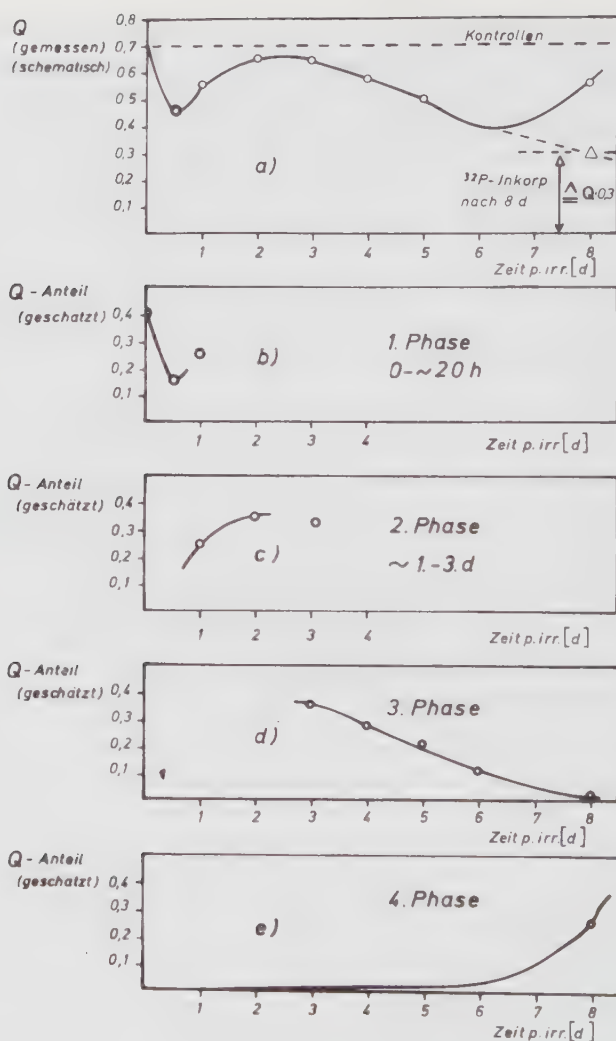


Abb. 20

Versuch einer qualitativen Deutung des Verlaufes der ^{32}P -Inkorporation bestrahlter Tumoren aufgrund bekannter strahlenbiologischer Modellvorstellungen (vgl. Text)

Danach ist der sofort nach Bestrahlung auftretende initiale Abfall des Quotienten durch Permeabilitätsänderungen bedingt, die bereits unter der Bestrahlung auftreten und sich sofort im Anschluß daran auswirken (b). Es ist bekannt, daß ^{32}P sich in der Zelle vorwiegend im Zellkern befindet und daß es durch Schädigungen der Kernmembran zu einer Ausschleusung von Kernmaterial in das Plasma kommt (10, 9, 18, 19). Permeabilitätsveränderungen, die bereits unter Bestrahlung auftreten und sofort nach Bestrahlung und teilweise für die Dauer mehrerer Stunden bis Tage nachweisbar sind, wurden von zahlreichen Autoren beschrieben (22, 16, 39, 26, 25, 24, 1, 31, 3).

Während der gleichen Zeit (0 - 20 Stunden) kommt es außerdem zu schnellablaufenden intrazellulären Erholungsvorgängen (Elkind-Erholung; vgl. (38)) subletal geschädigter Zellen. Dadurch wird der überlebende Anteil* der Zellpopulation mitbestimmt. Außerdem führt die Bestrahlung zu einem vorübergehenden Mitoseseptop, so daß die Zellen sich innerhalb des Zellzyklus in G_2 anreichern. Damit kommt es in der sich normalerweise asynchron teilenden Zellpopulation zu einer Synchronisationseffekt.

In der nächsten Phase (c) beginnen die überlebenden und erholten Zellen wieder mit der Teilung, die zunächst weitgehend synchron erfolgt. Am Teilungsgeschehen sind für die Dauer von 1 bis ca. 3 Zellzyklen auch noch beachtliche Teile der abgetöteten Zellen beteiligt (13, 2).

Der größte Teil der Zellen** wurde durch die Bestrahlung abgetötet^x, so daß der überlebende Anteil bei Annahme einer D_0

* Als Kriterium für Überleben wird in der Strahlenforschung allgemein die Erhaltung (oder Wiedererlangung; vgl. Elkind-Erholung) der unbegrenzten Teilungsfähigkeit benutzt.

** Für einen Tumor von 3 ml Volumen werden ca. $2,5 \cdot 10^7$ vitale Tumorzellen (= 1,5 ml) angenommen.

von 130 rad für 1000 rad bei ca. $5 \cdot 10^{-2} \%$, für 2000 rad bei ca. $3 \cdot 10^{-5} \%$ und für 4000 rad bei 0 Zellen liegen würde. In der dritten Phase (d) wird die abgetötete Zellpopulation, die vor dem endgültigen Untergang zum Teil noch 1 - 3 Teilungsschritte durchlaufen hat (siehe oben) abtransportiert. Dieser Prozeß spielt sich vom 2. bis 3. Tag an kontinuierlich ab und ist am 8. Tag noch nicht beendet. Die überlebenden Anteile der Population beginnen bereits zwischen dem 1. und 2. Tag mit erneuter Zellteilung (e), sofern der Tumor nicht, wie bei 4000 rad, völlig vernichtet ist.

Dies führt bei Annahme zunächst (vgl. Abb. 9) exponentieller Teilung zu einer zuerst unsichtbaren, dann aber in den letzten Beobachtungstagen beachtlichen Repopulation des Tumors. Dies dürfte jedoch nur nach 1000 rad die vor der Bestrahlung vorliegende Zellmasse des Tumors größenordnungsmäßig wieder ausgleichen haben. Das Wachstum der Tumoren ist nur während der ersten Tage annähernd exponentiell, und wird dann durch zunehmenden Übergang vitaler Zellen in Nekrose beeinflusst. Ein Ergebnis dieses histopathologisch nachgewiesenen Prozesses sind zunehmende Anteile anoxischer Tumorzellen. In der vorausgegangenen Betrachtung konnte der Anteil anoxischer Zellen wegen seines relativ geringen Einflusses auf das Ergebnis unberücksichtigt bleiben.

Jedoch müßte beim Versuch einer quantitativen Abschätzung besonders im Falle von Fraktionierungsexperimenten dieser Anteil quantitativ angegeben werden, da sich die bei Anoxie verbreiterte Schulter der Zellüberlebenskurve im Falle zeitlich verteilter Dosisapplikation besonders stark auswirkt (38).

Bei hinreichender Relevanz des in dieser Arbeit verwendeten Modells (bestrahlter Ehrlich-Tumoren) in der aufgezeigten Weise, wäre es möglich, eine optimale und damit notwendigerweise individualisierte Strahlentherapie anzustreben, wobei zunächst ein fraktioniertes Bestrahlungsmuster mit zwei Fraktionen bei Ver-

änderung des Zeitintervalls ins Auge zu fassen wäre. Dabei wäre in methodischer Richtung besonders daran zu denken, zur selektiven Bestimmung strahlenempfindlicher Syntheseschritte markierte Vorstufen der DNS zu benutzen.

7. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit werden Ausarbeitung und Anwendung einer in vivo-Meßmethode zur extracorporalen Verfolgung der ^{32}P -Anreicherung in Experimentaltumoren beschrieben.

Nachdem die unter 4.2., 4.3., 4.4. aufgeführten Störfaktoren erkannt und eliminiert bzw. berücksichtigt worden waren, bestand eine Meßanlage, die reproduzierbare Ergebnisse gewährleistete. Danach wurde versucht, das zu verwendende Tumormaterial - soweit bei einem biologischen Objekt möglich - zu standardisieren. Gewinnung, Überimpftechnik, Auslesekriterien und Volumenbestimmung der Tumoren werden beschrieben (5.1.3., 5.1.4., 5.1.5., 5.1.6.). Die Bestrahlung der Tumoren erfolgte tangential, jeweils nach der Hälfte der Dosis wurde der Tumor um 180° gewendet (5.1.7.). Die ^{32}P -Anreicherung wurde an unbestrahlten Tumoren untersucht, um Basiswerte für Bestrahlungsexperimente zu gewinnen (5.2.). Ein Bewertungskriterium für die ^{32}P -Anreicherung wird definiert und auf seine Relevanz hin diskutiert.

Desgleichen wurde in Tumoren die ^{32}P -Anreicherung nach Bestrahlung mit 1000, 2000 und 4000 R und in Abständen von 1-8 d nach der Bestrahlung untersucht. Die Meßzahlen als Bewertungskriterium (Quotient) unterschieden sich deutlich vom Normalwert. Die Quotienten bei den drei Bestrahlungsgruppen zeigen am ersten Tag nach der Bestrahlung nahezu Übereinstimmung, und verlaufen bis zum 8. Tag nach der Bestrahlung unterschiedlich (Abb. 18, Tab. 1). Eine strahlenbiologische Deutung der Ergebnisse wird versucht.

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. Bergeder, H.D. "Grenzflächen" in Scherer, E.u.H.St. Stender (Hrsg.): Strahlenpathologie der Zelle.
G. Thieme, Stuttgart 1963; 69
2. Bond, V.P.,
Fliedner, T.M.,
Archambeau, J.O. Mammalian radiation lethality, a disturbance in cellular kinetics.
Academic Press, New York, London 1965
3. Brinkmann, R. u.
Lamberts, H.B. Direct registration of an instantaneous X-ray effect in rats and man.
Nature 181 (1958) 774
4. Bullen, M.A.,
Freundlich, H.E.,
Hale, B.T.,
Marshall, D.H.,
Tudway, R.C. The activity of malignant tumors and response to the therapeutic agents, studied by continuous records of radioactive phosphorus uptake.
Postgrad. Med. J. 39 (1963) 265
5. Cavalli-Sforza, L. Grundbegriffe der Biometrie.
Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart (1964)
6. Chaikoff, I.L. et al. Zitiert nach (30)
7. Erf, L.A. u.
Lawrence, J.H. Clinical studies with the aid of radioactive phosphorus I.
J. clin. Invest. 20 (1940) 667
8. Erf, L.A. Clinical studies with the aid of radiophosphorus II.
Am. J. med. Sci. 203 (1942) 529

9. Ernst, H. Strahlenbedingte Frühveränderungen an Zellkern-Proteinen II. Vergleichende Untersuchungen über die Konzentration nuclearer Globuline und Histone in lymphatischen und parenchymatischen Geweben.
Z. Naturforschg. 17 b (1962) 300
10. Ernst, H. Über die Strahlenempfindlichkeit von Zellkern-Proteinen.
Die Naturwissenschaften 48 (1961) 575
11. Euler, H. v. u. Wirkung der Röntgenstrahlen auf den
Hevesy, G. v. Umsatz der Nukleinsäure im Jensen-Sarkom I.
Dansk. Vidensk. Selsk. Biol. Medd. 17 (1942) 8
12. Euler, H.v. u. Wirkung der Röntgenstrahlen auf den
Hevesy, G.v. Umsatz der Nukleinsäure im Jensen-Sarkom II.
Ark. Kemi. A17, Nr. 30, (1944)
13. Fliedner, T.M. Regeneration von bestrahlten Geweben aus zellphysiologischer Sicht.
Sonderband Strahlentherapie 66 (1967) 301
14. Geffen, A. Surface activity following administration of radioactive phosphorus.
Loevinger, R. Radiology 56 (1951) 857
Bernard, S.W.
15. Geigy, A.G., Geigy-Tabellen Dokumenta Geigy,
Firma: Wissenschaftliche Tabellen,
7. Auflage J.R. Geigy A.G.,
Pharma Basel 1968

16. Gerbig, H.
Heite, H.J.
Rausch, L.
Beitrag zum Mechanismus der Quaddel-
resorption, VI. Mitteilung: Über die
intracutane Resorption radioaktiven
Phosphates und ihre Beziehung zur
Quaddel- und Fluoreszein-Resorptions-
geschwindigkeit.
Dermat. Wschr. 141 (1959) 89
17. Graul, E.H.
Studien über periphere Hautstoff-
wechselvorgänge mit ³²P.
Strahlentherapie Sonderband 32 (1953)
108
18. Hagen, U.
"Biochemie der biologischen Strahlen-
wirkungen" in: Schinz, H.R. u. Mitarb.
(Hrsg.): Ergebnisse der medizinischen
Strahlenforschung, Neue Folge Bd. I.
G. Thieme-Verlag, Stuttgart (1964) 487
19. Hagen, U.
Biochemische Untersuchungen über den
Untergang lymphatischer Zellen nach
Röntgenbestrahlung.
Fortschritte der Medizin 80 (1962) 159
20. Hale, B.T.
A technique for studying human tumor
growth in vivo.
Lancet II. (1961) 345
21. Harbers, E.
Domagk, E.G.
Müller, W.
Die Nucleinsäuren,
G. Thieme-Verlag Stuttgart 1964
22. Heite, H.J.
Untersuchungen anhand der Quaddel-
resorption und der Hautinnendruckmes-
sung über die Wirkung der Röntgen-
strahlen auf die Haut.
Dermat. Wschr. 136 (1956) 588;
Zbl. Haut- u. Geschl. Krkh. 92
(1955) 382

23. Howard, A. u.
Pelc, S.R. Influence of radiation in DNA metabolism.
Ciba Foundation Symposium on Ionizing Radiation and Cell Metabolism.
J&A Churchill, London, 1956
24. Hug, O. "Biologische Sofortreaktion auf schwache Strahlendosen"
in: Rajewsky, B. (Hrsg.): IXth Internat. Congress of Radiology
23.7. - 30.7.1959 in München
G. Thieme-Verlag, Stuttgart,
Urban und Schwarzenberg, München -
Berlin 1961, Vol. II; S. 1181
25. Hug, O. Auslösung von Frühreflexen bei Schnecken durch Röntgen- und Alphastrahlen.
Strahlentherapie 106 (1958) 155
26. Hug, O. u.
Schliep, H.J. "Immediate reactions of nerves and muscles to ionizing radiation"
in: Harris, R.J.C. (Hrsg.): The initial effects of ionizing radiations on cells.
Academic Press, London - New York
1961
27. Jones, H.B.
Chaikoff, I.L. u.
Lawrence, H. Phosphorus metabolism of the soft tissues (Mammary carcinoma, Lymphoma, Lymphosarcoma) as indicated by radioactive phosphorus.
Am. J. Cancer 40 (1940) 235
28. Jones, H.B.
Chaikoff, I.L. u.
Lawrence, H. Phosphorus metabolism of neoplastic tissues of the normal mouse as indicated by radioactive phosphorus.
Am. J. Cancer 40 (1940) 245

29. Kuschinsky, G.
Lüllmann, H. Lehrbuch der Pharmakologie.
G. Thieme-Verlag, Stuttgart 1964
30. Krepsz, I.
Hirschfeld, I.
Pupp, A. Beitrag zum Studium des Einbaues
von radioaktivem Phosphor (^{32}P) in
tierexperimentelle Geschwülste.
Rad. biol. Ther. I/1, (1962) 23
31. Lamberts, H.B. Thesis, Groningen 1958
32. Linhart, G.
Pfeiff, H. Persönliche Mitteilung.
Gießen 1969
33. Low-Beer, B.V.A.
Bell, H.G.
Mc Corkle, H.J.
Stone, R.S. Measurement of radioactive phos-
phorus in breast tumors in situ;
a possible diagnostic procedure.
Radiology 47 (1946) 492
34. Pfeiff, H. Nahbestrahlung oder Tangentialbe-
strahlung von Experimentaltumoren.
Ein dosimetrischer Vergleich.
Strahlentherapie 128 (1965) 376
35. Pfeiff, H. Über eine Methode zur in vivo-Mes-
sung inkorporierter β -strahlender
Nuklide mit Halbleiterdetektoren und
ihre Anwendung auf Stofftransport
und Stoffwechselstudien unbestrah-
ter und bestrahlter Tumoren.
Dissertation (nat.-wiss.) Gießen 1969
36. Pfeiff, H.
Rausch, L. Miniaturhalbleiterdetektoren für
strahlenbiologische Untersuchungen
an Tumoren.
Atompraxis 12, H.6 (1966)
Direct Information Nuclearmedizin
37. Pfeiff, H. Persönliche Mitteilung.
Gießen 1969

38. Rausch, L. Anwendung strahlenbiologischer Erkenntnisse aus der Sicht des experimentell tätigen Strahlenbiologen. Strahlentherapie, Sonderband 64 (1966) 24
39. Rausch, L. Tierexperimentelle, histologische und dosimetrische Untersuchungen über einfache strahlenbiologische Modelle und ihre praktische Anwendung. 3. Mitteilung:
Die Phosphor - 32 - Abtransportgeschwindigkeit aus der Haut von Meerschweinchen.
Strahlentherapie 115 (1961) 593
40. Stäudner, R. Halbleiterdetektoren, Aufbau, Eigenschaften, Betriebsbedingungen. Hausmitteilung Nucletron 6 (1966)
41. Várterész, V. (Herausgeber) Strahlenbiologie. Akadémiai Kiadó, Budapest (1966)
42. Tuttle, L.W.
Erf, L.A.
Lawrence, J.H. Studies on neoplasms with the aid of radiophosphorus I.
J. Clin. Invest. 20 (1941) 58
43. Tuttle, L.W.
Lawrence, L.A. Studies on neoplasms with the aid of radiophosphorus II.
J. Clin. Invest. 20 (1941) 557
44. Vetter, H.
Veall, N. Radioisotopentechnik in der klinischen Forschung und Diagnostik. Urban und Schwarzenberg, München - Berlin (1960)

Herrn Professor Dr. L. Rausch danke ich für die Überlassung des
Themas, Anleitung bei der Planung und kritische Diskussion des
Manuskripts.

Herrn Dr. Pfeiff danke ich für die Einführung in die Meßtechnik,
zahlreiche wertvolle Anregungen und freundliche Hilfe bei der
Durchführung der Experimente.

Mitarbeitern der Abteilung für Experimentelle Radiologie und
Strahlenschutz der Röntgen-Klinik danke ich für Hilfe bei der
Korrektur des Manuskripts.

LEBENS LAUF

Am 7. 9. 1940 wurde ich, Helmut Strack, als Sohn des Arztes Dr. med. Johannes Strack und seiner Ehefrau Ingeborg geb. Stahn in Wien geboren. 1941 wurden wir nach Wehren Kreis Fritzlar/Homberg evakuiert. 1946 wurde ich in Hammah Kreis Stade/Elbe eingeschult. Bedingt durch die häufigen Versetzungen meines Vaters besuchte ich Volksschulen in Stade und in Wehren, Oberschulen in Osterode/Harz, Lübeck und Kassel, wo ich im März 1961 die Reifeprüfung ablegte. Im Sommersemester 1961 begann ich das Medizinstudium an der Justus Liebig-Universität in Gießen, das ich im September 1967 mit der ärztlichen Prüfung dort abschloß. Der experimentelle Teil der vorliegenden Dissertation wurde von August 1966 bis Dezember 1966 bearbeitet. Vom 1. 10. 1967 bis 31. 9. 1969 leistete ich die vorgeschriebene Medizinalassistentenzeit ab, und erhielt am 16. 10. 1969 meine Bestallung als Arzt.

FOTO-DRUCK LENZ · 63 Gießen · Riegelpfad 32/Ecke Ludwigstraße
Telefon 0641-77449